



Title	口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について : III. Veillonella alcalescensの過酸化水素分解酵素について
Author(s)	菊池, 裕子
Citation	歯科基礎医学会雑誌, 30(4), 379-386
Issue Date	1988-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/30110
Type	article
File Information	shika30-4.pdf



[Instructions for use](#)

原 著

口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について

III. *Veillonella alcalescens* の過酸化水素分解酵素について

菊 池 裕 子

北海道大学歯学部口腔細菌学講座 (指導: 鈴木 武教授)

〔受付: 昭和61年6月17日〕

Studies on the growth of oral indigenous bacteria and their oxidoreductase activities

III. The hydrogen peroxide decomposing enzyme of *Veillonella alcalescens*

Hiroko E. Kikuchi

Department of Oral Microbiology, School of Dentistry,
Hokkaido University, Nishi 7 chome, Kita 13 jo,
Kita-ku, Sapporo, 060

(Chief: Prof. Takeshi Suzuki)

〔Accepted for publication: June 17, 1986〕

Key words: *V. alcalescens* / catalase / partially-refinement / nonheme / peroxide-decomposing-enzyme

Abstract: *Veillonella alcalescens* subsp. *disper*, oral indigenous bacterium, produces a hydrogen peroxide-decomposing enzyme. It is presumed that the enzyme has heme as prosthetic group but a protein structure different from that of *Micrococcus* and liver catalases.

緒 言

口腔内には、ペイヨネラが多数存在している^{1,2)}。そのうちの約40%を過酸化水素分解活性(カタラーゼ活性)を有する *Veillonella alcalescens* が占めていると Newman³⁾ が報告している。

V. alcalescens は、歯表面や唾液中に 10^{6-8} コロニー形成単位(CFU)存在している⁴⁾。この細菌は乳酸塩を炭素源として利用し、発育培地のpHを上昇させる。そのため、武井と深津⁴⁾、および

Mikxら⁵⁾は、*V. alcalescens* は口腔内で抗う蝕性に作用する因子であると推定し、重要視している。

Rogosa⁶⁾ は、*V. alcalescens* の集落において、ヘムの検出法であるベンジジン・テストの反応結果が陰性であったため、「ペイヨネラの過酸化水素分解酵素は、ヘムを持っていない過酸化水素分解酵素である可能性」を報告している。

以上の観点から、*V. alcalescens* の生態を知るための一助として、本菌の過酸化水素分解酵素を精製し、その性状を検討することは意義あると考えられた。

実験材料と方法

1) 使用細菌

Veillonella atcalescens subsp. *disper* ATCC 17748, および対照菌種として *Micrococcus luteus* NCTC 2665を使用した。

2) 菌体破碎抽出液中の NADH オキシダーゼ活性, NADH ペルオキシダーゼ活性, およびペルオキシダーゼ活性の測定

NADH オキシダーゼ活性, および NADH ペルオキシダーゼ活性の測定は, M. I. Dolin の方法⁷⁾に準じて行った。すなわち, NADH オキシダーゼ活性は, 好気条件下における NADH の消費速度を340nm における吸光度の減少から測定して求めた。NADH ペルオキシダーゼ活性は, その反応系に更に過酸化水素を添加して, NADH の消費速度の増加を測定し, その増加量から求めた。これらの活性の測定の際, 青酸カリ, アジ化ナトリウムを最終濃度が1mM になるように加え, これらの試薬による反応の阻害度も検討した。また, グアヤコールを基質とするペルオキシダーゼ活性の有無も調べた⁸⁾。

3) カタラーゼ (過酸化水素分解) 活性の測定法

カタラーゼ活性は, Beers と Sizer の方法⁹⁾に従い, 過酸化水素の分解速度を240nm の吸光度の減少から測定して求めた。

4) カタラーゼ (過酸化水素分解) 活性の検出法

寒天平板発生集落, および菌体破碎抽出液中のカタラーゼ活性の存在は, Cowan¹⁰⁾の方法に従い, 3%過酸化水素を滴下し, 分解による発泡により検出した。

5) 精製法

V. atcalescens ATCC 17748 は, 乳酸ナトリウムを2%含むトリプチケース・ソイ・ブロス (BBL) を用いて静置培養した。*M. luteus* NCTC 2665は, 栄養強化培地 (組成; 1.0%牛肉エキス, 1.0%ポリペプトン, 0.15%酵母エキス, 0.5%食塩, 0.1%グルコース, pH 7.0) を用いて好気振盪培養した。いずれも37°C 下において24時間培養した。定常期の初期の細菌を集菌後,

0.02M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で3回洗滌した後, 同じ緩衝液に湿菌量0.5g/ml の割合に浮遊させた。この菌浮遊液をブラウン・ホモジナイザー (Braun, Germany) を用いて, 20 kHz で5分間, ガラス粒とともに振盪し, 細胞の破碎を行った。ガラス粒を低速で遠心除去した後, 100,000g で1時間超遠心し (日立超遠心機55P-2), 菌体破碎抽出液とした。この菌体破碎抽出液に粉末硫酸を0°C 下に加え, 25°C における硫酸飽和度40から70%の分画を分離し, これを可及的少量の0.02Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解した。この液を0.02Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) に対して4°C で24時間透析した。これを同じリン酸緩衝液で平衡化した DEAE-セルロース・カラムに吸着させた。吸着させた試料のカラムからの溶離は, 0.02Mから0.2Mまでの濃度勾配法により行った。最も活性の高い溶出部分を集め, 精製標品とした。

6) 酵素の純度の検定法

1%寒天ゲル, および0.02Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) を用いて寒天ゲル電気泳動を行った。タンパク量50 μ g の試料を複数について泳動し, 一方はクマジー・ブリリアント・ブルー R 250でタンパク染色し, 他方には3%過酸化水素を噴霧し, Cowan¹⁰⁾の方法によりカタラーゼ活性を検出した。また, Davis, および Ornstein¹¹⁾の方法に準じて, ポリアクリルアミドによるディスク電気泳動を実施した。寒天ゲル電気泳動の場合と同じく, 50 μ g の精製標品を泳動した後, クマジー・ブリリアント・ブルー R 250を用いてタンパク染色を行った。

7) 吸収スペクトルの測定法

酸化型の吸収スペクトルは, 分光光度計 (日立, 200型) を用いて測定した。また, 還元型のスペクトルは, ハイドロサルファイト・ナトリウム粉末を溶存酸素とヘムの還元に必要な量添加した後, 測定した。

8) ヘムの検出法

ピリジン・ヘモクローム法¹²⁾によって行った。精製標品に水酸化ナトリウムを最終濃度0.1Nになるように加えた後, ピリジンを最終濃度20%になるように加えた。しかるのち, ハイドロサルフ

ァイト・ナトリウム粉末を加え、吸収スペクトルを測定した。

9) 過酸化水素分解活性の阻害度の測定法

分光光度計を用いて、過酸化水素分解活性を測定する時、反応液中に青酸カリ、アジ化ナトリウム、昇こう、p-amino salicylic acid (PAS), 1.3.7. trimethyl xanthine(caffein), p-chloro-mercuribenzoic acid(p-CMB)のそれぞれを1mMから0.1mMの最終濃度になるように添加し、過酸化水素分解活性を50%阻害する濃度を Dawes の作図法¹³⁾に従って求めた。

実験結果

酵素の精製

V. alcalescens ATCC 17748の過酸化水素分解酵素を部分精製し、最終的に、比活性 18.6×10^2 U/mg of protein の標品を得た。これは、菌体破碎抽出液の比活性と比較すると約90倍に精製されており、収量は約30%であった (Table 1)。

比較のため、マイクロコッカスのカタラーゼを同時に精製した。*M. luteus* のカタラーゼ標品の比活性値は、 39×10^2 U/mg of protein であり、菌体破碎抽出液と比較して約9倍に精製されていた。

また、*V. alcalescens* の酵素は、*M. luteus* のカタラーゼと比較して、各精製段階ごとの比活性の上昇率は大きい、精製の初期に冷暗所に静置すると白色沈殿を生じ、活性が低下した。この沈殿には活性がなかった。

酵素の純度の検定

この実験には、比活性 18×10^2 U/mg of protein の *V. alcalescens* の酵素の精製標品を用いた。対照とした *M. luteus* の酵素の比活性は、 39×10^2 U/mg of protein であった。更に、もう1つの対照として、2回結晶させた高等動物の肝カタラーゼ (Sigma, USA), 300×10^2 U/mg of pro-

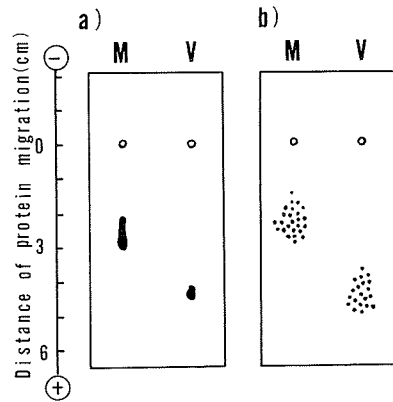


Fig. 1 Agar plate zone electrophoresis pattern. a) Staining of protein by Coomassie brilliant blue R-250. b) Catalase (H₂O₂-splitting) activity. M: Catalase from *M. luteus*. V: Enzyme from *V. alcalescens*.

tein の標品を使用した。

それぞれ、*V. alcalescens* と *M. luteus* から得た標品の寒天ゲル電気泳動は、明らかに移動度を異にした。また、カタラーゼ活性の検出位置は、それぞれのタンパク染色部位と一致した (Fig. 1)。

次に、*V. alcalescens* の精製標品のポリアクリルアミドによるディスク電気泳動では、メインバンド以外に約7本のトレース・バンドが認められた。対照としたマイクロコッカス、肝のカタラーゼでは、それぞれ2本のバンドを与えた (Fig. 2)。

酵素の紫外、および可視部の吸収スペクトル

この酵素の精製標品の酸化型の可視部スペクトルには、410nm, 485nm に吸収の肩が存在し、還元すると535nm に肩が現れた。還元型の紫外部スペクトルは、ハイドロサルファイト・ナトリウムの吸収が重なっているため記載を省略した (Fig. 3)。対照としたマイクロコッカスと肝のカタ

Table 1 Purification of *V. alcalescens* enzyme

Purificatory Step	Total Protein ($\times 10^2$ mg)	Total Activity ($\times 10^2$ U)	Sp Act. ($\times 10^2$ U/mg of protein)	enzyme Yield (%)
1. Crude extract	140	300	0.2	100.0
2. Fract of (NH ₄)SO ₄	5	278	5.6	92.7
3. Partially purified enzyme	0.5	91	18.6	30.3

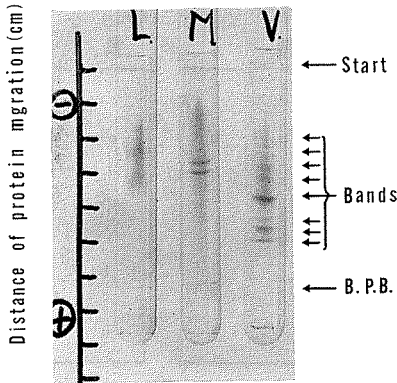


Fig. 2 Disc electrophoresis pattern of catalase from *V. alcalescens*.
 L : Catalase from bovine liver(Sigma).
 M : Catalase from *M. luteus*.
 V : Enzyme from *V. alcalescens*.

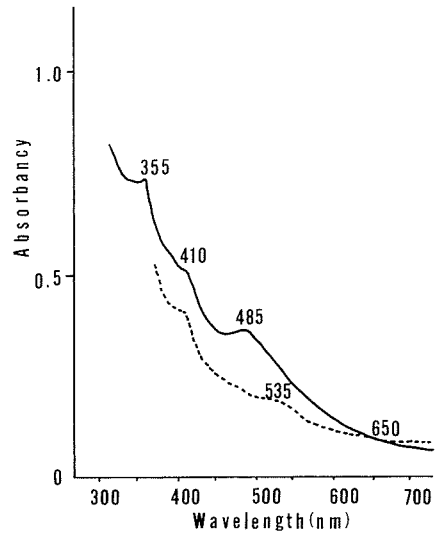


Fig. 3 Absorption spectrum of catalase from *V. alcalescens*.
 — : Oxidized form.
 --- : Reduced form by sodium hydrosulfite.

ラーゼの酸化型では、405nm にヘムに特有の吸収ピークが認められた (Fig. 4)。

ピリジン・ヘモクロームの吸収は、対照とした *M. luteus*, および肝のカタラーゼでは、418.5nm と557nm に鋭い吸収ピークが見られた。しかし、*V. alcalescens* の精製標品では、反応液の白濁が起り、明瞭な吸収スペクトルは得られなかった。

過酸化水素分解活性の阻害

青酸カリが50%の阻害をする濃度は、バイヨネラの酵素では、 $1.2 \times 10^{-4}M$, ミクロコッカスのカタラーゼでは、 $1.8 \times 10^{-5}M$ であった (Fig. 5)。また、アジ化ナトリウムが50%の阻害をする濃度は、バイヨネラの酵素では、 $1.7 \times 10^{-6}M$, ミクロ

コッカスのカタラーゼでは、 $2.2 \times 10^{-7}M$ であった (Fig. 6)。 $2 \times 10^{-4} \sim 10^{-8}M$ のPAS, $4 \times 10^{-3} \sim 10^{-8}M$ のcafein, 0.1mMの昇こう, および0.1mMのpCMBによっては、バイヨネラの酵素もミクロコッカスのカタラーゼも阻害を受けなかった。

菌体破碎抽出液中の NADH オキシダーゼ活性, NADH ペルオキシダーゼ活性, およびペル

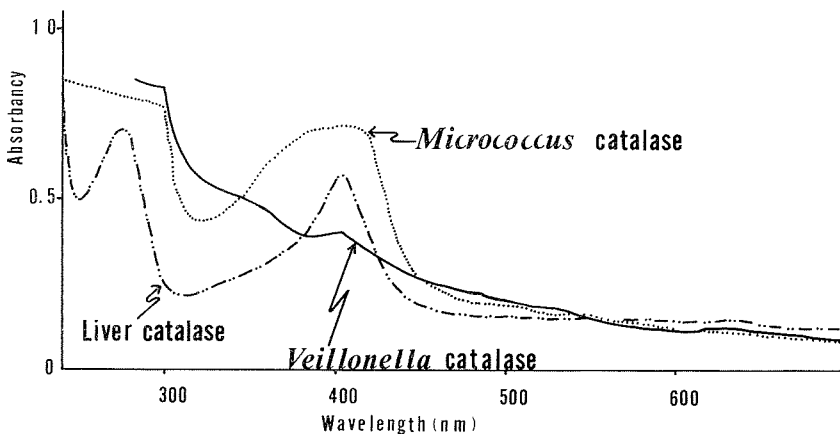


Fig. 4 Absorption spectrum of oxidized form of catalase from *M. luteus* and from bovine liver (Sigma).

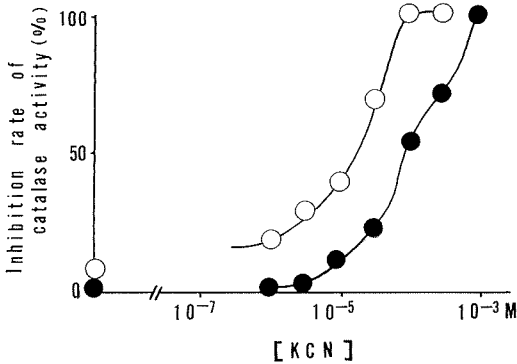


Fig. 5 Inhibition rate of catalase reaction by potassium cyanide.

●—● : Catalase from *V. alcalescens*.
○—○ : Catalase from *M. luteus*.

Concentration rate, which decreases to 50% of initial catalase activity at pH 7.5, 25°C is 1.2×10^{-4} M on *V. alcalescens*, and 1.8×10^{-5} M on *M. luteus*.

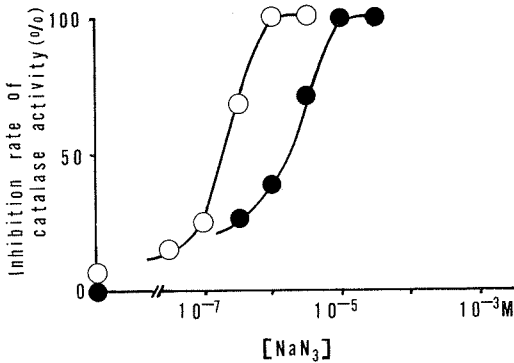


Fig. 6 Inhibition rate of catalase reaction by sodium azide.

●—● : Catalase from *V. alcalescens*.
○—○ : Catalase from *M. luteus*.

Concentration rate, which decreases to 50% of initial catalase activity at pH 7.5, 25°C is 1.7×10^{-6} M on *V. alcalescens*, and 2.2×10^{-7} M on *M. luteus*.

オキシダーゼ活性

菌体破砕抽出液中の NADH オキシダーゼ活性は、1.9U/mg of protein であった。この活性は 1 mM の青酸カリおよびアジ化ナトリウムで阻害されなかった。

NADH ペルオキシダーゼ活性は認められなかった。

また、グアヤコールを基質とするペルオキシダ

ーゼ活性も認められなかった。

考 察

微生物の過酸化水素分解酵素をタンパク構造の面から分けると、3種に大別される。すなわち、1つは、補欠分子族としてプロトポルフィリンIXを持つ、いわゆるヘマチン要求性の「カタラーゼ」([EC. 1, 11, 1.6], hydrogen-peroxide; hydrogen-peroxide oxidoreductase) である。これは、高等動物由来のカタラーゼ^{14,15)}とほぼ同じ性質を持つ。偏性好気性菌である *M. luteus* から精製された酵素¹⁶⁾もこれにあたる。2つ目は、耐気性嫌気性菌に存在し、「Fe dependent pseudo catalase」と呼ばれている^{17,18)}。連鎖球菌や乳酸桿菌の一部の株は、通常、過酸化水素分解能力を持たないが、鉄とグルコースを培地に加えて培養すると過酸化水素を分解するようになる^{17,18)}。これは、前述のヘマチン要求性カタラーゼと異なり、青酸カリ、アジ化ナトリウムに不感受性であり、酸に感受性である。

3つ目は、緑色の新型のカタラーゼである。これは、*Neurospora crassa* (アカパンカビ) から分離されている¹⁹⁾。

しかるに、*V. alcalescens* (旧称: *V. gazogenes*)の過酸化水素分解酵素については、Rogosa⁶⁾がヘムの検出法であるベンジジン・テストの結果から「ヘムを持っていない過酸化水素分解酵素」とであると推定している。本研究では、偏性嫌気性菌である *V. alcalescens* の過酸化水素分解酵素が上記のどのタイプに属しているか、また、Rogosaの推論が正しいかどうかについて検討した。

過酸化水素の分解は、ペルオキシダーゼ反応に伴って起きる可能性も考えられる²⁰⁾ので、その検討を行った結果、*V. alcalescens* の菌体破砕抽出液中には、NADH、グアヤコールを基質とするペルオキシダーゼは存在しないことが明らかになった。

吸光度の減少による過酸化水素分解活性の測定⁹⁾は、精製の初期には誤差を伴うが、測定法を統一するために、これを採用した。

バイヨネラの酵素は、マイクロコッカスと比較すると、精製の段階で白色沈殿を生じ、失活しやす

い。また、寒天ゲル電気泳動の結果から判断すると、マイクロコッカスのものより酸性のタンパク質である。なお、ベイヨネラの精製標品は、酸化型の可視部スペクトルから、ヘムタンパク質であると推定できる¹²⁾。しかし、マイクロコッカス型のカタラーゼは、他のカタラーゼと同じく簡単には還元できないという報告どおり¹⁴⁾、対照実験でもマイクロコッカスの酵素の還元型スペクトルは得られなかったが、*V. alcalescens* の酵素は、ハイドロサルファイト・ナトリウムにより簡単にスペクトル変化を起した。これらのことから、*V. alcalescens* の酵素タンパク質は、*M. luteus* のものとは、かなり異なったアミノ酸組成を持つと推定された。

一方、マイクロコッカスの酵素の精製標品のピリジン・ヘモクロームの吸収帯の位置は、文献値と一致したが¹²⁾、ベイヨネラの精製標品では、ピリジン・ヘモクローム作製の過程で濁りが生じ、信頼できる結果が得られなかった。これが酵素自身の性質によるものか、不純物によるものか不明である。

次に、ヘム鉄に直接結合する青酸カリ、アジ化ナトリウムによる酵素活性の阻害を調べた。ベイヨネラの精製標品の過酸化水素分解酵素活性の方がマイクロコッカスのカタラーゼ活性に比べ、いずれも約10倍阻害されにくい。しかし、青酸カリ、アジ化ナトリウムに感受性であるから、ヘムを含むカタラーゼである可能性は強い。また、第二水銀イオン、および pCMB によって、いずれの酵素も阻害されなかったため、ベイヨネラの酵素の補欠分子族が硫黄を含む非ヘム鉄やセレン²¹⁾ である可能性は低いと判断した。

本実験の結果、および参考文献から、*V. alcalescens* の過酸化水素分解酵素は、ヘムタンパク質ではあるが、*M. luteus* のカタラーゼとは、かなり性質が異なっていると考えた。青酸カリ、アジ化ナトリウムに対する感受性から、Fe-dependent pseudo catalase である可能性は低い。

前々報では、種々の酸素濃度下における口腔常在細菌の増殖性の違いについて報告した²²⁾。その原因として、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、カタラーゼ、NADH ペルオキシダー

ゼ、NADH オキシダーゼなどの酸化還元酵素の保有の有無が考えられている。Carlsson らは²³⁾、カタラーゼを持たない偏性嫌気性菌などを培養する際には、培地滅菌後、生成した過酸化物をカタラーゼの添加によって分解してから接種することを勧めている。実際、大多数の偏性好気性菌、および通性嫌気性菌は、過酸化水素を分解する酵素を生産するが、大部分の耐気性嫌気性菌、および偏性嫌気性菌は、この酵素を生産しない。しかし、偏性嫌気性菌のうちでも、*V. alcalescens*⁶⁾、*Propionibacterium acnes*²⁴⁾、*Clostridium sporogenes*^{24,25)}、ペプトコッカス^{24,26)} などでは、過酸化水素を分解する酵素の存在が報告されている。また、耐気性嫌気性菌のうちにも、培養条件によっては、過酸化水素分解能力を有する菌株のあることが報告されている^{26,27)}。細菌の酸素感受性と保有している酵素との関係については、前報で、主に耐気性嫌気性菌について考察している²⁸⁾。

また、May ら²⁹⁾は、ベイヨネラの過酸化水素分解活性は、同一の株であっても、継代によって、しばしば変化すると報告している。*V. alcalescens* の過酸化水素分解酵素は、嫌気性菌の菌体内にあって、どのような生理的役割を果たしているのだろうか。*V. alcalescens* の菌体破碎抽出液中にNADH オキシダーゼ活性が認められるので、生細胞中で過酸化水素が発生している可能性はある。過酸化水素分解活性は、その過酸化水素を除去するには十分と思われる。この点に関しては、*Neurospora crassa* で新しく見つかったカタラーゼについての知見¹⁹⁾が参考になると思う。*N. crassa* は好気性の微生物であるが、硝酸呼吸を行う。*N. crassa* のカタラーゼは、硝酸塩培地で硝酸還元酵素を誘導する際、発見された¹⁹⁾。*V. alcalescens* もまた、嫌気性菌であるが、硝酸塩還元能を持つ。肝カタラーゼの亜硝酸塩を水素供与体とするペルオキシダーゼ活性が知られているので³⁰⁾、*V. alcalescens* のカタラーゼの生理的役割を考える時、硝酸呼吸との関連を考慮する必要がある。

結 語

V. alcalescens は、偏性嫌気性菌に属している

が、過酸化水素分解酵素を生産することが示された。その酵素は、ヘムを活性基とするが、*Micrococcus*、および肝臓のカタラーゼとは、かなり異なるタンパク質構造を持つ可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただきました北海道大学歯学部口腔細菌学講座、鈴木武教授に心か

ら感謝致します。また、御校閲と御鞭撻をいただきました北海道大学歯学部小児歯科学講座、及川清教授、予防歯科学講座、谷宏教授に感謝致します。更に実験結果を検討していただきました北海道大学歯学部歯科薬理学講座、谷口和弥助教授に深く感謝致します。

抄録：口腔常在細菌である *V. alcalescens* の過酸化水素分解酵素を部分精製した。この酵素は、ヘムを活性基とするが、肝¹⁵⁾、および *M. luteus* のカタラーゼ¹⁶⁾と異なるタイプの酵素であると推察された。

文 献

- Gibbons, R. J., Socransky, S. S., de Araujo, W. C. and van Houte, J.: Studies of the predominant cultivable microbiota of dental plaque. *Arch. Oral. Biol.* **9**: 365-370, 1964.
- Socransky, S. S., Gibbons, R. J., Dale, A. C., Bortnick, L., Rosenthal, E. and Macdonald, J. B.: The microbiota of the gingival crevice area of man. I. Total microscopic and viable counts of specific organisms. *Arch. Oral. Biol.* **8**: 275-280, 1963.
- Newman, M. G. and Socransky, S. S.: Predominant cultivable microbiota in periodontitis. *J. Periodont. Res.* **12**: 120-128, 1977.
- 武井 盈, 深津利雄: *Veillonella* 属に関する *M. Rogosa* の提案. *歯基礎誌* **7**: 97-101, 1966.
- Mikx, F. H. M., van der Hoeven, J. S., König, K. G., Plasschaert, A. J. M. and Guggenheim, B.: Establishment of defined microbiol ecosystems in germ-free rats. I. The effect of the interaction of *Streptococcus mutans* or *Streptococcus sanguis* with *Veillonella alcalescens* on plaque formation and caries activity. *Caries Res.* **6**: 211-223, 1972.
- Rogosa, M.: The genus *Veillonella*. I. General ecological and biochemical considerations. *J. Bacteriol.* **87**: 162-170, 1964.
- Dolin, M. I.: The *Streptococcus faecalis* oxidases for reduced diphosphopyridine nucleotide IV Isolation and properties of a flavin peroxidase for reduced diphosphopyridine nucleotide. *J. Biol. Chem.* **225**: 557-567, 1957.
- Maehly, A. C. and Chance, B.: Methods of Biochemical Analysis. ed. by Glick, D., Vol. 1, 357, Interscience, New York, 1957.
- Beers, R. F. and Sizer, I. W.: A spectrophotometric method for measuring breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* **220**: 133-140, 1951.
- Cowan, S. T.: Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed., Cambridge at the University Press, Cambridge, 1974.
- Davis, B. J. and Ornstein, L.: Disc electrophoresis. I. Background and theory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **121**: 321-404, 1964.
- 宿谷良一: ヘム含量の測定, 日本生化学会編: 生化学実験講座12, エネルギー代謝と生体酸化 pp. 645-646, 東京化学同人, 東京, 1974.
- Dawes, E. A.: Quantitative Problems in Biochemistry. Churchill Livingstone, Edinburgh and London, 1972: 中馬一郎, 岩坪源洋, 山野俊雄, 久保秀雄訳: 生物物理化学 I 増訂第5版, pp. 205-227, 共立出版, 東京, 1973.
- 満田久輝: カタラーゼ. 蛋白質核酸酵素編集部編: ヘム蛋白の構造と機能. pp. 82-86, 共立出版, 東京, 1967.
- Sumner, J. B.: The chemical nature of catalase. *Advances in enzymology* **1**: 163-176, 1941.
- Herbert, D. and Pinsent, J.: Crystalline bacterial catalase. *Biochem. J.* **43**: 203, 1948.
- Johnston, M. A. and Delwiche, A.: Distribution and characteristics of the catalase of *Lactobacillaceae*. *J. Bacteriol.* **90**: 347-351, 1965.
- Langston, C. W., Gutierrez, J. and Bouma, C.: Catalase-producing strains of *Streptococci*. *J. Bacteriol.* **80**: 693-695, 1960.
- Jacob, G. S. and Orme-Johnson, W. H.: Catalase of *Neurospora crassa*. I. Induction, purification and physical properties. *Biochemistry* **18**: 2967-2975, 1979.
- 日本生化学会編, 生化学実験講座12, エネルギー代謝と生体酸化, pp.615, 東京化学同人 東京, 1976.
- Oh, S. H., Ganther, H. E. and Hoekstra, W. G.: Selenium as a component of gul-

- tathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes. *Biochemistry* **13** : 1825-1829, 1974.
- 22) 菊池裕子 : 口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について. I. 各種酸素濃度下における口腔常在細菌の増殖性. *菌基礎誌* **27** : 1169-1177, 1985.
- 23) Carlsson, J., Nyberg, G. and Wrethen, J. : Hydrogen peroxide and superoxide radical formation in anaerobic broth media exposed to atmospheric oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* **36** : 223-229, 1978.
- 24) Uesugi, I. and Yajima, M. : Oxygen and strictly anaerobic intestinal bacteria I. The effects of dissolved oxygen on growth, II. Oxygen metabolism in strictly anaerobic bacteria. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie* **18** : 287-295, 1978.
- 25) 小酒井望, 鈴木祥一郎 : 嫌気性菌と嫌気性菌症 pp. 73, 93, 医学書院, 東京, 1968.
- 26) Brock, T. D. : *Biology of Microorganisms*. pp. 313-318, Prentice-Hall Inc., 1974.
- 27) Singleton and Sainsbury : *Dictionary of Microbiology*. pp. 293, John Wiley and Sons, London, 1978.
- 28) 菊池裕子 : 口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について. II. 口腔常在細菌が保有する酸化還元酵素について. *菌基礎誌* **29** : 363-370, 1987.
- 29) Mays, T. D., Holdman, L. V., Moore, W. E. C., Rogosa, M. and Johnson, J. L. : Taxonomy of the genus *Veillonella* Prévot. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **32** : 28-36, 1982.
- 30) Keilin, D. : The action of sodium azide on cellular respiration and on some catalytic oxidation reactions. *Proc. R. Soc. B* **121** : 165-173, 1937.